prof. dr hab. inż. Joanna Puławska
Instytut Ogrodnictwa
Zakład Fitopatologii
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3
96-100 Skierniewice

Skierniewice 19.07.2020

Recenzja pracy doktorskiej mgr. Adriana Duby
„Zdrowotność wybranych gatunków rodzaju *Triticum* L. jako wynik morfologicznych i genetycznych mechanizmów obronnych roślin"

Przedstawiona do recenzji praca wykonana w Katedrze Entomologii, Fitopatologii i Diagnostyki Molekularnej, Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem prof. dr hab. Urszuli Wachowskiej oraz dr Katarzyny Głowackiej jako promotora pomocniczego dotyczy oceny zdrowotności pszenicy o różnym stopniu ploidalności pod kątem podatności na choroby grzybowe. Mgr A. Duba oceniał podatność pszenic na porażenie przez patogeniczne grzyby zarówno pod kątem nasilenia objawów chorobowych jak i przyjrzał się cechom morfologicznym badanych pszenic i genetycznemu podłożu ich mechanizmów obronnych. Dodatkowo praca objęła stworzenie kolekcji izolatów *Fusarium,* ich szczegółową identyfikację i analizę pod kątem potencjalnej zdolności do tworzenia trichotecenów – mykotoksyn istotnych dla patogeniczności grzybów tego rodzaju. Pszenica jest jednym z najistotniejszych udomowionych przez człowieka zbóż a jej uprawy są narażone na duże zniszczenia powodowane chorobami grzybowymi. Zboża zazwyczaj są chronione przed chorobami za pomocą zabiegów środkami ochrony roślin, jednak ich skuteczność nie zawsze jest zadowalająca, a obecny trend do zmniejszenia chemizacji rolnictwa m.in. w celu zapewnienia bezpiecznej żywności, spowodował, że wiele substancji czynnych fungicydów zostało wycofanych z listy środków dozwolonych w rolnictwie i należy spodziewać się, że proces ten będzie postępował. Obecnie duże nadzieje pokładane są w

hodowli odpornościowej nowych odmian zbóż w celu stworzenia odmian o zmniejszonej podatności na choroby, a tu potrzebna jest wiedza na temat naturalnych źródeł odporności.

Przedstawiona do recenzji praca ma formę opublikowanych artykułów naukowych w miejsce typowego formatu obszernej rozprawy doktorskiej, co ciągle nie jest częstym wyborem. Ta forma wiąże się z dodatkowym procesem recenzji manuskryptów i często długim procesem wydawniczym, ale pozytywnie świadczy o podejściu Doktoranta do pracy naukowej i o jakości przeprowadzonych badań. Na rozprawę doktorską Pana mgr. Adriana Duby składają się cztery wieloautorskie prace naukowe opublikowane w latach 2018-2019. Jedna z tych prac jest pracą przeglądową, nakreśla obecny stan wiedzy na temat interakcji pszenicy z wybranymi jej patogenami i stanowi wprowadzenie dla kolejnych trzech oryginalnych prac naukowych. Trzy spośród publikacji – publikacja przeglądowa i dwie publikacje opisujące wyniki badań prowadzonych przez mgr. A. Dubę są napisane w j. angielskim, a ostatnia w zestawieniu oryginalna praca, w j. polskim. Prace anglojęzyczne opublikowane zostały w renomowanych czasopismach naukowych posiadających współczynnik wpływu IF (Impact Factor) o wartościach IF 2,259; 2,632 i 4,183 (sumaryczny IF = 9,074). Doktorant jest pierwszym autorem wszystkich prac a jego wkład, zgodnie z jego oświadczeniem i oświadczeniami współautorów, był we wszystkich publikacjach przeważający i wynosił od 65 do 70%.

Główna część pracy doktorskiej składająca się z opublikowanych artykułów naukowych poprzedzona jest streszczeniem w języku polskim i w języku angielskim, krótkim rozdziałem **Wstęp** oraz **Hipotezy badawcze i cele prowadzonych badań**. Drugi z wymienionych rozdziałów obejmuje cztery hipotezy badawcze, które w większości są poprawnie skonstruowane. Pewne moje wątpliwości budzi treść drugiej hipotezy badawczej, w której Autor zakłada precyzyjnie, że zidentyfikuje trzy genotypy *Fusarium* warunkujące produkcję określonych trichotecenów. Dlaczego akurat trzy? Hipoteza badawcza z definicji jest przypuszczeniem, więc taka precyzja w przypuszczeniu, zgodna z później uzyskanymi wynikami jest raczej zaskakująca. Hipoteza mogłaby brzmieć bardziej ogólnie, np. „zostaną zidentyfikowane różne genotypy". Natomiast cele badań są jasne, prawidłowo skonstruowane i obejmują najważniejsze wątki badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej.

Kolejna część to **Przegląd literatury**, w którym Doktorant syntetycznie opisuje charakterystykę wybranych gatunków pszenicy oraz jej wybranych grzybowych patogenów. Opis jest jasny i przejrzysty, jednak w pewnym kontraście do części opisującej doświadczenia (rozdziały **Materiał roślinny** i **Metody badawcze**), a zwłaszcza rozdziału Metody badawcze, w którym już na początku Doktorant opisuje doświadczenia nad podatnością badanych

genotypów *Triticum* na *Puccinia striiformis* oraz *Puccinia recondita,* a we wstępie nie ma wzmianki na temat tych patogenów. Wyniki są opisane w rozdziale **Najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań** gdzie w sposób syntetyczny Autor opisał kluczowe dla pracy rezultaty, odnosząc się do poszczególnych publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Polskojęzyczną część rozprawy zamykają rozdziały **Wnioski, Najważniejsze pozycje piśmiennictwa wykorzystane przy wykonywaniu rozprawy doktorskiej** oraz **Wykaz publikacji składających się na pracę doktorską.** Rozdział Wnioski obejmuje 12 punktów. Moje zastrzeżenia budzi ich treść ponieważ mają one charakter raczej podsumowania otrzymanych wyników (dot. Wniosków nr 4-12) niż wyciągniętych z nich wniosków. W pełnym tego słowa znaczeniu wnioskiem z przeprowadzonych doświadczeń mogłoby być np. zdanie z abstraktu publikacji oznaczonej P2 „Our findings indicate that selected einkorn lines could potentially be used as sources of genetic material for breeding new varieties resistant to FHB". Dodatkowo punkty od 1 do 3 nie powinny w ogóle się znaleźć w tej części ponieważ dotyczą one wniosków innych badaczy, które Doktorant opisywał w pierwszej przeglądowej pracy oznaczonej symbolem P1.

Praca jest uzupełniona o oświadczenia współautorów dotyczące udziału w publikacji, a także o płytę CD z formą elektroniczną rozprawy doktorskiej, co niezwykle sobie cenię, gdyż ułatwiło mi to pracę jako recenzentowi.

Mgr A. Duba zajął się problemem zdrowotności pszenicy zarówno od strony rośliny jak i patogenów, a zwłaszcza grzybów z rodzaju *Fusarium.* Jednym z celów pracy było określenie zróżnicowania w podatności pszenic o różnym poziomie ploidalności. Doktorant przyjrzał się reakcji roślin nie tylko na poziomie fenotypowym, czyli podczas obserwacji rozwoju symptomów chorobowych i oceny stopnia porażenia roślin, ale również na poziomie molekularnym. Mgr A. Duba zastosował w swoich badaniach mikroskopię skaningową tak aby ocenić budowę i liczbę barier konstytutywnych badanych genotypów pszenicy, a także wykorzystał analizy biochemiczne w celu porównania zdolności pszenic do wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROS) oraz aktywność enzymu amoniakoliazy fenyloalaniny (PAL), mających znaczenie w reakcji roślin na infekcję przez patogeny. Autor wykazał, że heksaploidalne linie *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* były najbardziej podatne na porażenie w warunkach naturalnych przez sprawców septoriozy paskowanej liści oraz mączniaka prawdziwego zbóż i traw. Jednocześnie gatunki reliktowe pszenicy charakteryzowały się większą liczbą trichomów. Analizy biochemiczne wykazały różnice między odpornymi liniami pszenicy zwyczajnej, a odpornymi liniami orkiszu w reakcji po inokulacji *Fusarium culmorum.*

Kolejnym wątkiem pracy były badania nad grzybami z rodzaju *Fusarium*. Doktorant stworzył kolekcję 305 izolatów grzybów tego rodzaju, które pozyskał z różnych gatunków pszenicy. Izolaty zostały scharakteryzowane i zidentyfikowane wstępnie na podstawie analizy morfologicznej, a wybrane z nich, dodatkowo na podstawie analizy sekwencji niekodującego regionu ITS będącego markerem taksonomicznym. Mgr A. Duba postawił sobie za cel również charakterystykę kolekcji patogenów pod kątem potencjalnej zdolności do tworzenia trichotecenów i na podstawie uzyskanych wyników podzielił izolaty na 3 genotypy.

Doktorant w swoich badaniach wykorzystał wiele różnych technik począwszy od podstawowych technik mikrobiologicznych poprzez techniki mikroskopowe, analizy biochemiczne do technik biologii molekularnej, a przy opracowaniu danych stosował analizy statystyczne. Świadczy to o kompleksowym podejściu do badanych zagadnień i chęci poznania ich na różnych poziomach. Mówi to też o dużej otwartości Doktoranta na pozyskiwanie nowych umiejętności, bo każda z tych technik wymaga odpowiednio dużego wysiłku jaki należy włożyć aby się z nimi zapoznać i je opanować.

W związku z tym, że wszystkie opublikowane prace przeszły już proces recenzji, nie jest łatwo z uwagami krytycznymi w stosunku do ich zawartości i właściwie takich nie mam. Jedyne uwagi, dotyczą polskojęzycznej części pracy i wymieniłam je powyżej. Dodatkowo chciałabym zwrócić uwagę na drobne niedociągnięcia redaktorskie/stylistyczne:

- w Streszczeniu zarówno na początku jak i pod koniec drugiego akapitu przedstawione są te same informacje dotyczące charakteru relacji opisywanych patogenów z rośliną gospodarzem,
- wymieniany po raz pierwszy gatunek powinien mieć podaną całą nazwę rodzajową, a nie tylko pierwszą literę jak np. str 18. *P. striiformis* oraz *P. recondita*,
- na str. 8 powinno być w odpowiedzi na infekcję roślin przez patogen, a nie „na infekcję patogenu".

Podczas lektury publikacji nasunęły mi się pewne zagadnienia, na temat których chętnie poznałabym opinię Doktoranta podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej:

1. W swojej pracy mgr A. Duba pisze o odmianach pszenicy bardziej lub mniej odpornych na choroby. Jaka jest różnica między pojęciami odporność a tolerancja w przypadku roślin?
2. Czy są genotypy pszenic wyróżniające się tolerancją na stresy abiotyczne np. suszę?

Generalnie, przedstawioną do recenzji pracę oceniam bardzo dobrze. Uważam, że rozprawa doktorska mgr. A. Duby stanowi bardzo dobrze zaplanowaną i zrealizowaną pracę badawczą. Za szczególnie cenne uważam kompleksowe podejście do układu: roślina żywicielska - pszenica i jej patogeny grzybowe, dzięki czemu możliwe było poznanie aspektów związanych z mechanizmem patogeniczność obu elementów tego patosystemu.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona do oceny praca odpowiada warunkom stawianym rozprawom doktorskim. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie dopuszczenie Pana mgr. Adriana Duby do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy oraz jej formę w postaci opublikowanych czterech prac, w tym trzech w dobrych międzynarodowych czasopismach wnioskuję o wyróżnienie rozprawy i jej Autora stosowną nagrodą.

Joanna Puławska

Prof. dr hab. inż. Joanna Puławska